

ANALISIS SENYAWA ANTIOKSIDAN PADA MINYAK BIJI LABU KUNING (*Cucurbita pepo* L.)

ANALYSIS OF ANTIOXIDANT COMPOUNDS ON PUMPKIN (*Cucurbita pepo* L.) SEED OIL

Muhammad Nur Abdillah¹, Ida Musfiroh², Wiwiek Indriyati²

¹ Department of Pharmacochemistry, Bandung School of Pharmacy STFB, Jl. Soekarno-Hatta No. 754, 40614, Bandung, Indonesia

² Dept. of Pharmacochemistry, Faculty of Pharmacy, Padjadjaran University, Jl. Raya Jatinangor Km 2.5, 45363, Jatinangor, Indonesia

Email: muhammad.nurabdillah@stfb.ac.id

Received: 6 April 2018; Revised: July 2018; Accepted: August 2018; Available online: August 2018

ABSTRACT

Pumpkin seed oil (*Cucurbita pepo* L.) popular as healthy oil and became natural antioxidant as consist of various unsaturated fatty acid, carotenoid, flavonoid and polyphenolic. The purpose of this research is to study the compounds on pumpkin seed oil that has antioxidant activity by determining fatty acids composition of the oil using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and antioxidant activity by inhibiting free-radical DPPH and determination of total polyphenolic content as gallic acid using UV-Vis spectrophotometry. Pumpkin seed oil was produced by solvent extraction with Soxhlet apparatus used as sample. Oil samples was reacted to form fatty acid methyl ester for component analysis by GC-MS determination. Antifree-radical activity was determined using UV-Vis spectrophotometry to count the IC_{50} value of concentration series of mixed samples and free-radical DPPH compared to vitamin C as standard antioxidant. Total polyphenolic content as gallic acid was determined using UV-Vis Spectrophotometry by reacting samples with Folin-Ciocalteu reagent. Pumpkin seed oil content at least 10 moderate chain fatty acid, saturated and unsaturated, volatile oil and carotenoid. Antioxidant activity of pumpkin seed oil with IC_{50} value of 16,90(\pm 0,28)mg/L in inhibiting free-radical DPPH and has total polyphenolic content as gallic acid of 0,212%.

Keywords: pumpkin seed oil, antioxydant, DPPH free radical, polyphenolic, UV sepectrophotometry, GC-MS.

ABSTRAK

Minyak nabati dari biji labu kuning (*Cucurbita pepo* L.) telah digunakan sebagai minyak sehat dan terkenal berkhasiat sebagai antioksidan alami karena mengandung asam lemak tak jenuh, karotenoid, flavonoid dan polifenolat. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dengan menentukan komposisi asam lemak penyusun minyak biji labu kuning (*Cucurbita pepo* L.) dengan kromatografi gas-spektrometri massa (KG-SM) serta aktivitas antioksidan dari antiradikal bebas dari minyak biji labu kuning (*Cucurbita pepo* L.) dengan metode peredaman radikal bebas DPPH dan penetapan kandungan polifenolat total sebagai asam gallat yang diukur secara spektrofotometri UV-Vis. Minyak biji labu kuning yang dihasilkan dengan ekstraksi pelarut menggunakan alat Soxhlet sebagai sampel pengujian. Sampel minyak direaksikan menjadi bentuk ester metil asam lemak untuk dianalisis komposisi asam lemak penyusun minyak dengan KG-SM. Pengujian aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dengan metode penetapan nilai IC_{50} dari berbagai seri pengenceran konsentrasi sampel minyak yang diberikan radikal bebas DPPH diukur berdasarkan serapan pada spektrofotometri UV-Vis dibandingkan dengan aktivitas antioksidan standar vitamin C. Penentuan kadar polifenolat dihitung sebagai asam gallat dengan mereaksikan sampel dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dan diukur berdasarkan serapan pada spektrofotometri UV-Vis. Minyak biji labu kuning mengandung 10 jenis asam lemak rantai menengah jenuh dan tak jenuh, mengandung minyak atsiri dan karotenoid. Aktivitas antioksidan minyak biji labu dengan IC_{50} 16,90(\pm 0,28)mg/L terhadap radikal bebas DPPH dan kadar polifenolat total sebagai asam gallat sebesar 0,212%.

Kata kunci: minyak biji labu kuning, antioksidan, radikal bebas DPPH, polifenolat, spktrofotomteri UV, KG-SM.

PENDAHULUAN

Minyak nabati yang diperoleh dari kacang-kacangan atau biji-bijian memiliki keunggulan pangan karena memiliki citarasa yang khas serta kandungan nutrisi yang sehat. Minyak nabati dari biji labu kuning telah digunakan sebagai minyak sehat dan terkenal di wilayah Eropa Timur^{1,2,3}. Minyak biji labu kuning yang diperoleh dengan pengepresan maupun ekstraksi pelarut menghasilkan minyak dengan karakteristik yang baik untuk bahan pangan, kosmetika dan farmasi karena memenuhi Standard Nasional Indonesia (SNI) untuk minyak nabati, meliputi sifat fisika titik didih, titik asap dan kadar air yang sesuai; serta sifat kimia bilangan asam dan penyabunan yang memenuhi syarat, bilangan iodium dan bilangan penyabunan yang baik menunjukkan minyak biji labu kuning merupakan minyak sehat yang mengandung asam lemak essensial dengan ikatan rangkap tak jenuh yang juga bersifat antioksidan⁴.

Selain nilai karakteristik minyak yang harus memenuhi SNI, penentuan komposisi yang terkandung dalam minyak nabati menjadi acuan nutrisi yang menyatakan kebaikan dari minyak. Komposisi minyak nabati berupa asam lemak dapat diketahui dengan penentuan komposisi minyak nabati dengan kromatografi gas-spektrometri massa (KG-SM)^{5,6}. Komponen asam lemak penyusun minyak nabati merupakan kandungan nutrisi utama yang dapat menentukan minyak nabati yang sehat untuk dikonsumsi, seperti memiliki asam lemak tak jenuh tunggal maupun ganda, asam lemak omega 3 dan omega 6 atau mengandung asam lemak rantai menengah yang banyak⁷. Komponen penyusun minyak nabati lainnya juga dapat diketahui dari hasil analisis KG-SM seperti zat warna karotenoid dan komponen minyak atsiri yang mencirikan aroma khas minyak nabati⁸.

Asam lemak tak jenuh tunggal dan ganda dapat bertindak sebagai antioksidan alami dalam minyak nabati, namun komponen lain yang terkandung dalam minyak dapat memperbesar efek antioksidan pada minyak, sehingga efek antioksidan ini dapat bertahan sebagai nutrisi tambahan untuk dikonsumsi oleh manusia⁴. Kandungan zat karotenoid, flavonoid dan polifenolat dengan aktivitas antioksidan yang baik, dapat berasal dari biji tanaman akan ikut masuk ke dalam minyak saat proses penarikan minyak dari biji tersebut⁹. Penentuan senyawa antiradikal bebas pada minyak nabati dilakukan dengan menetapkan IC_{50} penghambatan senyawa radikal bebas DPPH yang diukur secara spektrofotometri UV^{10,11}.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui komposisi asam lemak penyusun minyak biji labu kuning (*Cucurbita pepo* L.) dengan KG-SM serta aktivitas antioksidan dari antiradikal bebas dari minyak biji labu kuning (*Cucurbita pepo* L.) dengan metode peredaman radikal bebas DPPH dan penetapan kandungan polifenolat total sebagai asam gallat yang diukur secara spektrofotometri UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat gelas dan preparasi yang umum digunakan, alat ekstraksi Soxhlet, KG-SM QP 5000 (Shimadzu), kertas saring Whatman no. 40, rotary vaporator, spektrofotometri UV-Vis (Specord 200 Analytik Jena), termometer, timbangan analitik (Sartorius).

Bahan

Biji labu kuning berasal dari biji yang digunakan untuk pembibitan yang diperoleh dari penjual bibit tanaman di Kabupaten Tasikmalaya, Jawa Barat. Dilakukan determinasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran.

Bahan uji berupa sampel minyak biji labu kuning hasil ekstraksi dengan alat Soxhlet, air suling, DPPH (1,1-diphenyl 2-picryl-hydrazyl) (E. Merck), etanol 95% (Bratachem), isooktana (E. Merck), metanol (E. Merck), n-heksan (Bratachem), natrium karbonat (E. Merck), pembanding vitamin C dan asam gallat standar (E. Merck), pereaksi Folin-Ciocalteu (E. Merck), pereaksi metilasi boron triflorida dalam metanol (14% w/v) (E. Merck), petroleum benzena (E. Merck).

Prosedur Kerja

Biji labu kuning dikeringkan di suhu kamar terlindung dari cahaya matahari. Dipanaskan dengan oven 60°C selama 1 jam dan dikupas untuk mendapatkan biji telanjangnya (kernel). Kernel dihaluskan dan siap untuk diekstraksi. Sebanyak 1 kg kernel halus diekstraksi dengan alat Soxhlet dengan pelarut n-heksana pada suhu 60°C hingga tetesan hampir tidak berwarna (4-6 jam). Ekstrak

dikentalkan dan dipisahkan dengan pelarutnya dengan alat rotary vaporator pada suhu 30°C. Ditentukan rendemen ekstraksi, ekstrak kental selanjutnya digunakan sebagai sampel untuk pengujian⁴.

1. Identifikasi Komposisi Asam Lemak Penyusun Minyak dengan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (KG-SM)

Sampel dipreparasi terlebih dahulu dengan mereaksikannya membentuk ester metal asam lemak agar mudah menguap dalam kolom kromatografi gas. Serangkaian proses metilasi yaitu sebanyak 25mg asam lemak dilarutkan dalam petroleum benzena dalam botol serum 5mL, ditambahkan dengan 2mL pereaksi metilasi (boron triflorida dalam metanol), dididihkan bersama air suling dalam gelas piala di atas penangas selama 3 menit, reaksi dihentikan dengan menambahkan sekitar 1mL air suling, terbentuk 2 fasa larutan, diambil fasa atas berupa ester metil asam lemak dalam pelarut petroleum benzena, kemudian dikisatkan (vaporisasi) hingga volume 780µL, dan diencerkan 50x dengan isooktana. Kondisi pemisahan dengan KG-SM Shimadzu QP5000 kolom kapiler DB 17 panjang 30m diameter 0,25mm, suhu program 80°C/3 menit/10°C permenit/260°C/10 detik, suhu injektor 250°C, suhu detektor 300°C, tekanan 66kPa, kecepatan alir 1mL/menit⁷.

2. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode inhibisi radikal 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) dan penentuan polifenolat total sebagai asam gallat¹⁰.

a. Metode Inhibisi DPPH

Kristal DPPH ditimbang sebanyak 3mg dalam etanol 100mL sebagai larutan stok 30ppm. Sebanyak 10mg sampel minyak diekstraksi dalam 100mL etanol 95% selama 2 hari hingga asumsi konsentrasi 100ppm (w/v). Pembuatan kurva pengenceran IC₅₀ dengan mengencerkan sampel pada konsentrasi 2ppm, 4ppm, 8ppm dan 16ppm, masing-masing sebanyak 2mL ditambahkan 3mL radikal DPPH 30ppm, dikocok dan didiamkan 30 menit pada ruangan gelap suhu ruangan 25°C. Serapan pada spektrofotometri UV diukur pada panjang gelombang serapan maksimum λ 517nm dilakukan triplo.

Tabel 1. Prosedur Pembuatan Kurva Baku

Kons. Reference	EtOH 2mL	Sampel -	DPPH 3mL	Blanko 5mL EtOH
1	-	2mL	3mL	EtOH3mL+Sampel2mL
2	-	2mL	3mL	EtOH3mL+Sampel2mL
3	-	2mL	3mL	EtOH3mL+Sampel2mL
4	-	2mL	3mL	EtOH3mL+Sampel2mL
5	-	2mL	3mL	EtOH3mL+Sampel2mL

Persen inhibisi DPPH dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{Referensi}} - A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{Referensi}}} \times 100\%$$

Data persen inhibisi diplotkan terhadap nilai konsentrasi sampel secara regresi linier. Nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan minyak didapat dari konsentrasi 50% sampel yang dapat menghambat aktivitas radikal DPPH dibandingkan dengan IC₅₀ antioksidan baku vitamin C.

b. Penentuan Polifenolat Total sebagai Asam Gallat.

Sejumlah 50µL sampel ditambahkan 2,5mL pereaksi Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan sepersepuluh kali dari konsentrasi awal. Kemudian ditambahkan natrium karbonat 75% dan diinkubasi 45°C selama 15 menit. Sampel diukur pada panjang gelombang λ 765nm daerah cahaya tampak terhadap standar asam gallat yang diukur sebagai miligram GAE per gram dw, standar diukur dengan cara yang sama (GAE = *Gallic Acid Equivalent* = Ekuivalen dengan Asam Gallat).

Total polifenolat diperoleh dengan rumus:

$$\text{Kadar Polifenolat} = \frac{C_{\text{Alat}}}{C_{\text{Awal}}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi yang dilakukan dengan alat Soxhlet pada suhu 60°C selama 4-6 jam menghasilkan rendemen sebesar 46,57(±1,70)%.

Biji labu kuning dipanaskan terlebih dahulu untuk mengeluarkan aroma dari kandungan minyak atsiri nya, serta mengeluarkan minyak dari vakuola untuk proses ekstraksi pelarut¹².

Identifikasi Komposisi Asam Lemak Penyusun Minyak dengan Kromatografi Gas - Septrometri Massa (KG-SM)

Analisis komposisi asam lemak penyusun minyak dengan KG-SM dapat dilihat pada Tabel 2 berikut:

Tabel 2. Hasil Karakterisasi Komposisi Asam Lemak Penyusun Minyak Biji Labu Kuning Hasil Ekstraksi Menggunakan Alat Soxhlet dengan KG-SM

RT	SI	BM	Nama Senyawa	Komposisi (% Norm.)
11,786	<80	214	Metil Laurat	0,06
13,944*)	-	-	-	0,08
14,160	<80	242	Metil Miristat	0,99
14,486	<80	222	Elemol	0,26
15,555*)	-	-	-	0,21
16,383	94	270	Metil Palmitat	26,43
16,444*)	-	-	-	0,48
17,098	88	256	Asam Palmitat	1,46
17,296	85	256	Metil 12-metiltetradekanoat	0,17
18,381	88	296	Metil Oleat	34,10
18,641	92	294	Metil Linoleat	30,32
18,840	84	278	Asam Linolenat	0,22
18,981	90	284	Asam Stearat	0,15
19,059	94	282	Asam Oleat	2,19
19,272	91	280	Asam Stearolat	2,45
20,041	91	326	Metil Arakhidat	0,44

Keterangan: <80 = Penawaran tidak jelas

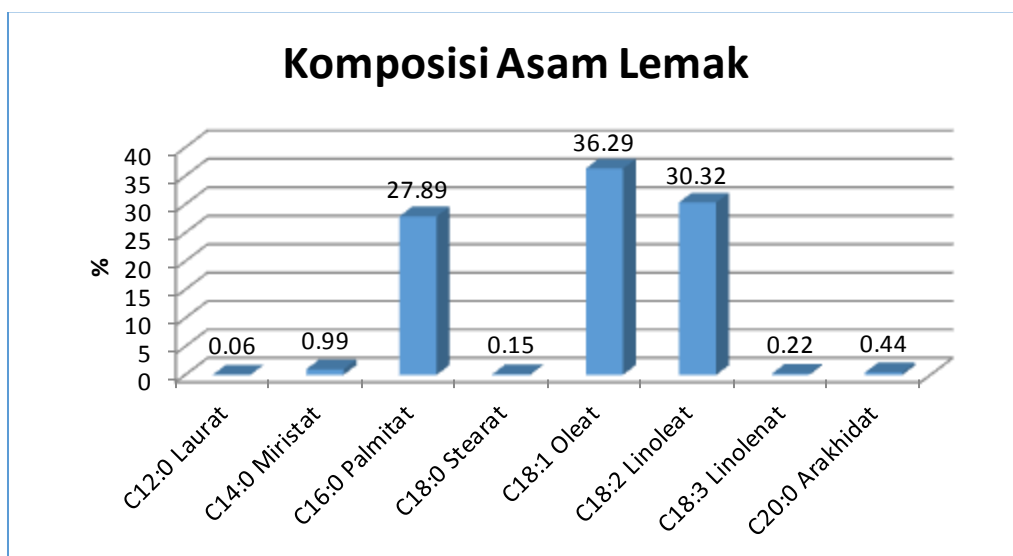
*) = Tidak dapat diidentifikasi dari databasenya

SI : Identifikasi Similaritas dengan database

BM : Berat Molekul

RT : Waktu Retensi (menit)

Dapat disimpulkan bahwa kandungan asam lemak penyusun minyak terbesar adalah asam oleat (36,29%), diikuti asam linoleat (30,32%), dan asam palmitat (27,89%). Kandungan asam lemak lainnya adalah asam laurat (0,06%), miristat (0,99%), stearat (0,15%), linolenat (0,22%) dan asam arakhidat (0,44%). Mengandung elemol suatu senyawa monosiklik monoterpen yang memberikan aroma khas pada minyak biji labu kuning³, serta asam stearolat suatu asam lemak ikatan rangkap tiga disebut juga asam lemak essensial vitamin F1 dan asam 12-metiltetradekanoat sebagai asam lemak penyusun minyak yang tidak umum ada pada minyak nabati, sehingga memberikan kekhasan pula pada minyak biji labu kuning hasil ekstraksi dengan alat Soxhlet ini.



Gambar 1. Grafik hasil karakterisasi komposisi asam lemak penyusun minyak biji labu kuning hasil ekstraksi dengan alat Soxhlet

Tingginya kandungan asam oleat dan linoleat sebagai asam lemak yang tidak jenuh pada minyak biji labu kuning dapat menjadikan minyak biji labu kuning sebagai alternatif minyak sehat sebagai bahan pangan karena merupakan asam lemak tak jenuh yang juga bersifat antioksidan karena memiliki satu atau lebih ikatan rangkap yang dapat menangkap radikal bebas secara alami.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

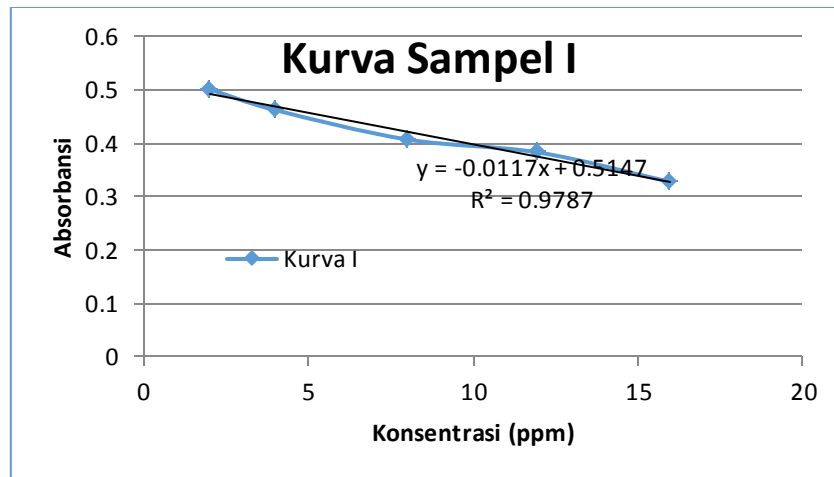
Metode Inhibisi DPPH

Nilai IC_{50} dari minyak biji labu kuning hasil ekstraksi dengan alat Soxhlet yang menghambat radikal DPPH adalah $16,90(\pm 0,28)$ mg/L. Bila dibandingkan dengan pembanding antioksidan vitamin C yang memiliki nilai EC_{50} 5,11 mg/L, maka aktivitas antioksidan vitamin C lebih baik dibandingkan dengan minyak biji labu kuning hasil ekstraksi dengan alat Soxhlet. Namun dengan nilai IC_{50} yang masih tergolong kecil, maka dapat disimpulkan bahwa dengan konsentrasi yang kecil tersebut minyak biji labu kuning hasil ekstraksi dengan alat Soxhlet baik sebagai minyak yang memiliki aktivitas antioksidan.

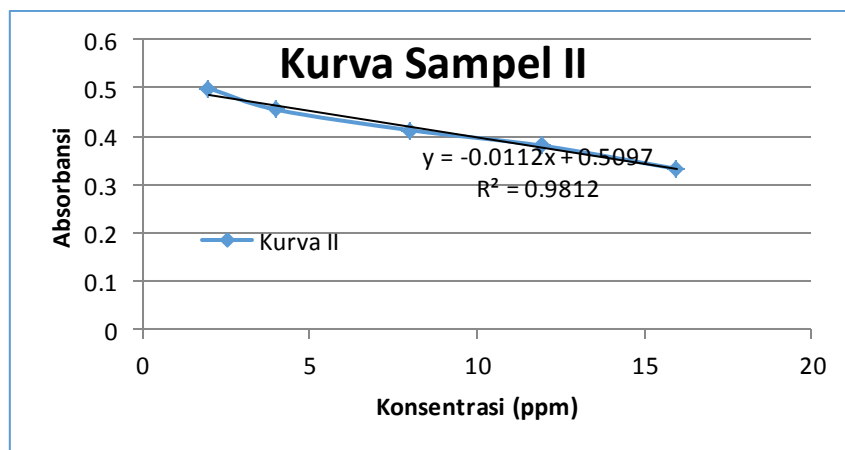
Data serapan metode inhibisi DPPH sampel minyak biji labu kuning ekstraksi I dan II dapat dilihat pada Tabel 2 serta Gambar 1 dan 2.

Tabel 3. Data Serapan Metode Inhibisi DPPH

Sampel I		Sampel II	
Konsentrasi (ppm)	A _{rata-rata}	Konsentrasi (ppm)	A _{rata-rata}
2	0,5013	2	0,4898
4	0,4623	4	0,4550
8	0,4071	8	0,4125
12	0,3825	12	0,3799
16	0,3273	16	0,3321
A reference		0,6374	

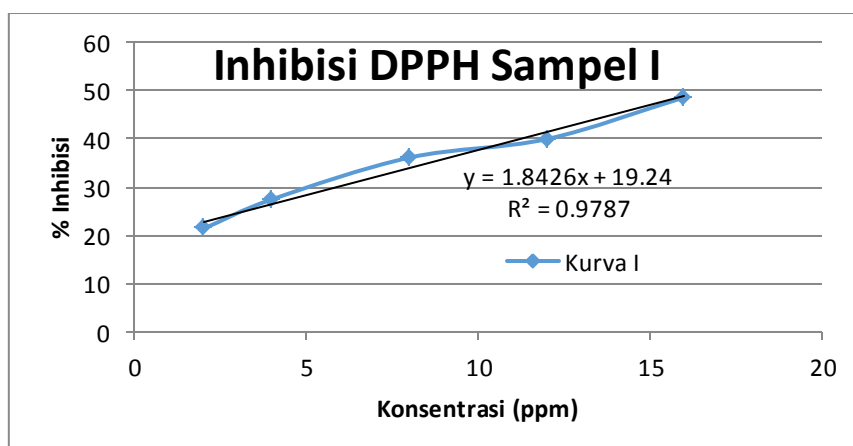


Gambar 2. Grafik absorbansi v.s. konsentrasi sampel I

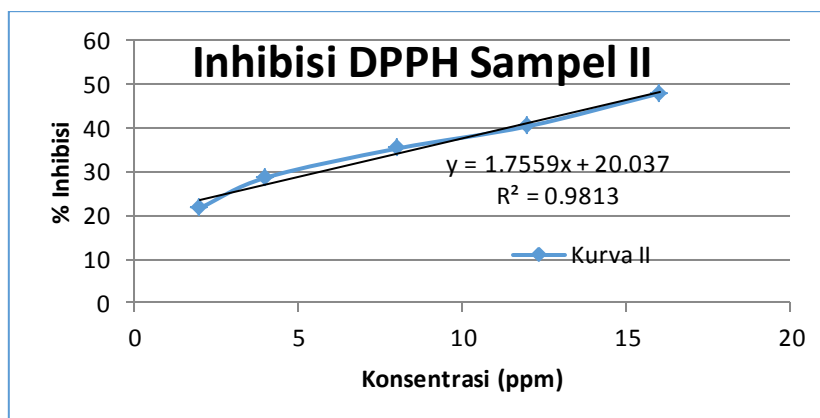


Gambar 3. Grafik absorbansi v.s. konsentrasi sampel II

Grafik untuk perhitungan Nilai IC_{50} dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4.



Gambar 4. Grafik antioksidan sampel I



Gambar 5. Grafik antioksidan sampel II

Nilai IC_{50} ekstrak etanol sampel I: 16,70ppm

Nilai IC_{50} ekstrak etanol sampel II: 17,10ppm

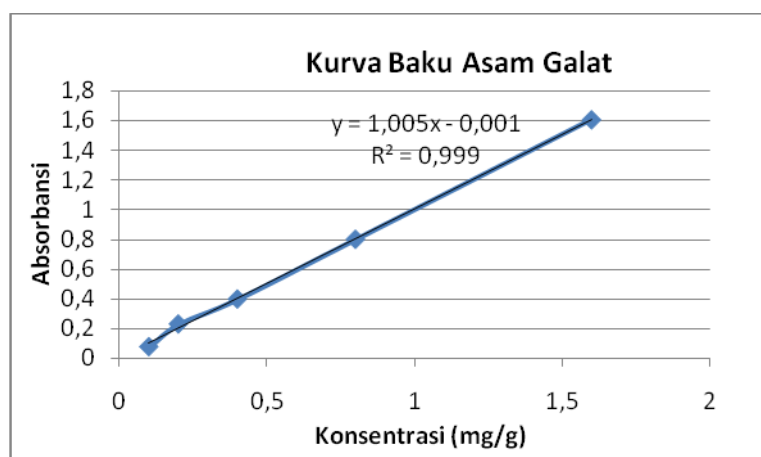
Rata-rata = 16,90($\pm 0,28$)ppm

Penentuan Polifenolat Total sebagai Asam Gallat.

Kadar polifenolat dalam ekstrak metanol minyak biji labu kuning hasil ekstraksi dengan alat Soxhlet adalah sebesar 0,212% dihitung sebagai standar asam gallat. Sampel uji direaksikan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dalam suasana basa. Sebagai standar digunakan asam gallat (3,4,5-trihidroxy benzoic acid) yang merupakan senyawa polifenolat dan dikenal sebagai antioksidan yang kuat. Kemampuan asam gallat lebih kuat dari trolox, suatu analog vitamin E yang larut dalam air¹³. Warna biru yang terbentuk (molybdenum) dibaca pada panjang gelombang λ 765nm. Semakin tinggi kadar asam gallat, semakin meningkat intensitas warna biru yang terbentuk.

Tabel 4. Data Kurva Baku Asam Gallat

Konsentrasi asam gallat(mg/g)	Serapan
0,1000	0,076
0,2000	0,229
0,4000	0,398
0,8000	0,801
1,600	1,608



Gambar 6. Kurva baku asam gallat

Tabel 5. Hasil Uji Polifenolat Total

Sampel	Konsentrasi (mg/g)	Rata-rata (mg/g)	Serapan	Rata-rata
Ekstrak	0,1461	0,1661	0,071	0,087
Metanol	0,1780		0,097	
Ekstraksi I	0,1743		0,094	
Ekstrak	0,0908	0,1113	0,026	0,042
Metanol	0,0969		0,031	
Ekstraksi II	0,1461		0,071	

Konsentrasi rata-rata = $0,1387(\pm 0,037)\text{mgGAE/g}$

$$\text{Kadar Polifenolat} = \frac{0,1387}{65,395} \times 100\% = 0,212\%$$

Keterangan: GAE = *Gallic Acid Equivalent* = Ekuivalen dengan Asam Gallat

Kadar polifenolat minyak biji labu kuning hasil ekstraksi dengan alat Soxhlet relatif kecil, hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain: pemanasan, sehingga kadar polifenolatnya menurun akibat oksidasi; juga bahwa sebagian besar senyawa polifenolat yang relatif polar akan sangat sedikit larut dalam pelarut nonpolar seperti n-heksan yang digunakan dalam proses ekstraksi. Kandungan polifenolat yang terkandung dalam minyak biji labu kuning dikonfirmasi dengan penapisan fitokimia yang menunjukkan hasil positif dengan polifenolat⁴.

Minyak biji labu kuning menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik dengan menunjukkan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dengan IC_{50} yang cukup rendah. Aktivitas antioksidan diperkuat dengan adanya aktivitas dari antioksidan polifenolat serta kandungan berbagai asam lemak tak jenuh di dalam minyak biji labu kuning tersebut.

KESIMPULAN

Komposisi asam lemak penyusun minyak biji labu kuning berupa: asam laurat (sebagai metil laurat) 0,06%, asam miristat (sebagai metil miristat) 0,99%, elemol 0,26%, asam palmitat 1,46% (sebagai metil palmitat) 26,43%, asam 12-metiltetradekanoat (sebagai ester metilnya) 0,17%, asam oleat 2,19% (sebagai metil oleat) 34,10%, asam linoleat (sebagai metil linoleat) 30,32%, asam linolenat 0,22%, asam stearat 0,15%, asam stearolat 2,45%, dan asam arakhidat (sebagai metil arakhidat) 0,44%.

Minyak biji labu kuning menunjukkan aktivitas antioksidan dengan IC_{50} $16,90(\pm 0,28)\text{mg/L}$ terhadap radikal bebas DPPH dan kadar polifenolat total sebagai asam gallat sebesar 0,212%..

DAFTAR PUSTAKA

- Thomasson, H. J. (1954) Stearolic Acid, An Essential Fatty Acid? *Nature*, **173**, 452.
- Katzer, G. (2002) Spices Page: Oilseed Pumpkin Seed (*Cucurbita pepo* var. *Styriaca* f. *Oleifera*), London, Spices Page.
- Choi, H. S. (2003) Character Impact Odorants of Citrus Hallabong [(*C. unshiu* Marcov x *C. sinensis* Osbeck) x *C. reticulata* Blanco] Cold-pressed Peel Oil, *J. Agric. Food Chem*, **51**, 2687-2692.
- Abdillah, M. N., Musfiroh, I., dan Indriyati, W. (2014) Karakterisasi Minyak Biji Labu Kuning (*Cucurbita pepo* L.) Hasil Ekstraksi dengan Alat Soxhlet, *J. Farmasi Galenika*, **1**(1), 2-7.
- Bhati, A. GC-MS of Triglycerides and Related Compounds. In: Rossel, J. B. and R. J. Hamilton (editors). (1986) *Analysis of Oils and Fats*, London and New York, Elsevier Applied Science Publisher, 216-217.
- AOAC. (2005) *Official Methods of Analysis*, 16th edition, Washington, Association of Official Analytical Chemists, 3-86.
- Rossel, J. B. Classical Analysis of Oils and Fats. In: Rossel, J. B. and R. J. Hamilton (editors). (1986) *Analysis of Oils and Fats*, London and New York, Elsevier Applied Science Publisher, 1-90.

8. Apriyantono, A., D. Fardiaz, L. Puspitasari, Sedarnawati, dan S. Budiyanto. (2009) Analisis Pangan, Penelaah D. Muchtadi. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Giji IPB, 82-111.
9. Hernandez, Y., G. M. Lobo, and M. Gonzales. (2006) Determination of Vitamin C in Tropical Fruits: A Comparative Evaluation of Methods, *Food Chemistry*, **96**, 654-644.
10. Siger, A., Malgorzata N-K., and Eleonora L-S. (2008) The Content and Antioxidant Activity of Phenolic Compounds in Cold-pressed Plants Oil, *Journal of Food Lipids*, **15**, 137-149.
11. Bawa, I. G. A. G. (2010) Analisis Senyawa Antiradikal Bebas Pada Minyak Biji Daging Kepuh (*Stercuria foetida* L.), *Jurnal Kimia*, **4**(1), 35-42.
12. Ketaren, S. (2008) Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan, Jakarta: UI-Press, 18-65.
13. Sohi, K. K., N. Mittal, M. K. Hundal, and K. Rhandu. (2003) Gallic Acid, An Antioxidant, Exhibits Antiapoptotic Potential in Normal Human Lymphocytes: A Bcl-2 Independent Mechanism, *Journal Nutrition Science Vitaminol*, **49**(4), 221-227.